

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
30 octobre 2003 (30.10.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2003/088979 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷: C12Q 1/68, 1/70, A61K 31/0788, 38/02, 39/21, C07K 14/15, 16/10, C12N 15/48

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/001274

(22) Date de dépôt international : 22 avril 2003 (22.04.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/05001 22 avril 2002 (22.04.2002) FR

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) :
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE [FR/FR]; 3, rue Michel Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR). UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER II [FR/FR]; 2 place Eugène Bataillon, F-34095 MONTPELLIER Cedex 5 (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : KIM, Félix Jinhyun [FR/FR]; 65, avenue du Pont Juvenal, Apt.69, F-34000 Montpellier (FR). MANEL, Nicolas Gabriel Albert [FR/FR]; 11, rue Robert Desnos, F-34070 Montpellier (FR). SITBON, Marc Khamous Michel [FR/FR]; 17, rue de Louvain, F-34000 Montpellier (FR).

(74) Mandataires : DEMACHY, Charles etc.; Grossset-Fournier & Demachy, 54, rue Saint-Lazare, F-75009 Paris (FR).

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publié :

— avec rapport de recherche internationale
— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont requises

(88) Date de publication du rapport de recherche internationale : 19 février 2004

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: OLIGONUCLEOTIDES FROM SEQUENCES CODING FOR THE SURFACE COMPONENT OF ENVELOPE PROTEINS OF PRIMATE T-CELL LEUKAEMIA/LYMPHOMA VIRUSES (PTLV) AND USES THEREOF

A3

(54) Titre : OLIGONUCLEOTIDE ISSU DES SEQUENCES CODANT POUR LA COMPOSANTE DE SURFACE DE PROTEINES D'ENVELOPPE DES VIRUS DES LYMPHOMES /LEUCEMIES T CHEZ LES PRIMATES (PTLV) ET LEURS UTILISATIONS

(57) Abstract: The invention relates to the use of oligonucleotides from the nucleotide sequences coding for the amino-terminal region of the surface component (SU) of envelope proteins of PTLV viruses in order to perform methods of detecting every PTLV strain or PTLV-related viruses, e.g. for the detection of novel PTLV variants or viruses comprising sequences related to PTLV SUs. The invention also relates to primer pairs which are used to perform said detection methods and the novel PTLV variants thus detected.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet l'utilisation d'oligonucléotides issus des séquences nucléotiques codant pour la région氨基-terminal de la composante de surface (SU) des protéines d'enveloppe des virus des PTLV, pour la mise en œuvre de procédés de détection de toute souche de PTLV, ou de virus apparentés aux PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV. L'invention a également pour objet des couples d'amorces pour la mise en œuvre de ces procédés de détection, ainsi que les nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

WO 2003/088979

OLIGONUCLEOTIDES ISSUS DES SEQUENCES CODANT POUR LA COMPOSANTE DE SURFACE DES PROTEINES D'ENVELOPPE DES PTLV ET LEURS UTILISATIONS

5

La présente invention a pour objet des oligonucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminotermrale de la composante de surface des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes/leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, et leurs utilisations dans le cadre de la détection de toute souche de

10 PTLV ou de souches virales apparentées.

La présente invention découle de l'identification par les Inventeurs de motifs peptidiques de la SU qui conviennent à la synthèse d'oligonucléotides pouvant être utilisés pour la détection et l'amplification de séquences pan-PTLV comprenant ces motifs. Les inventeurs ont mis au point une méthode permettant l'amplification de telles séquences, leur 15 clonage et séquençage. La présente invention permet notamment la détection de séquences individuelles présentes dans un mélange de séquences des différents types. L'optimisation pour certains des motifs peptidiques ainsi identifiés a déjà permis la caractérisation de variants PTLV jamais encore décrits, ainsi que de détecter des séquences PTLV dont la présence dans les échantillons testés n'était pas suspectée. L'application généralisée de la présente invention 20 permettra la détection et la caractérisation soit de nouvelles séquences apparentées aux SU de PTLV, soit de séquences déjà connues dans de nouveaux contextes pathologiques ou non.

La recherche de séquences des rétrovirus humains ou de primates est primordiale dans de nombreux contextes. De manière non-exhaustive, ces recherches intéressent le criblage de matériaux biologiques (produits dérivés du sang, par exemple), le diagnostic (recherche de 25 l'étiologie de syndromes multiples couvrant leucémies, maladies dégénératives, maladies autoimmunes, etc), les études épidémiologiques et anthropologiques des différents groupes humains, le séquençage des génomes (composition et marqueurs rétroviraux polymorphiques des génomes), le criblage de nouveaux médicaments (définition de nouvelles cibles), etc.

Dans le cas des PTLV, nous relèverons deux exemples des problèmes associés à la 30 détection de leurs séquences. Dans le premier exemple, des individus, généralement réunis sous le terme de "séroindéterminés", présentent une réponse immune anti-HTLV dite "incomplète", dirigée contre certains antigènes seulement des PTLV, alors qu'aucune séquence correspondant à des PTLV ne peut être amplifiée à partir d'échantillons sanguins de

ces patients. Dans les cas les mieux documentés la recherche de telles séquences se fait sur des régions conservées des gènes *gag*, *pol*, *env* et *tax*. Dans le cas du gène d'enveloppe, la partie amino terminale de la SU est écartée de cette approche du fait de sa variabilité. La région amino terminale, de la composante de surface (SU) des enveloppes des rétrovirus de

5 primates humains et non-humains de type HTLV et STLV (regroupés ici sous le terme PTLV) est notamment responsable de la reconnaissance du ou des récepteurs cellulaires pour l'enveloppe (Kim et coll, 2000). À ce jour, aucune méthode d'amplification dans cette région directement applicable aux trois types de PTLV (application dite pan-PTLV) n'a été décrite. Ainsi, généralement seule est considérée l'amplification de motifs présents dans les parties les 10 plus conservées de la composante transmembranaire de l'enveloppe (TM). Toutefois, dans la mesure où la variabilité de la SU est un élément essentiel de la biologie adaptative des rétrovirus, la mise au point d'une approche basée sur sa détection représente un objectif particulièrement intéressant.

La présente invention a pour objet l'utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés 15 en orientation 5' et 3' issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminoterminal de la composante de surface (SU) des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes / leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, ces virus étant encore désignés HTLV chez l'homme et STLV chez le singe, à savoir de la région correspondant aux fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé 20 entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV,

pour la mise en œuvre de procédés de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus apparentés aux PTLV, à savoir de toute souche dont la séquence en 25 acides aminés déduite de la séquence nucléotidique codant pour la région aminoterminal de la SU présente un taux d'homologie d'au moins environ 30% avec les séquences en acides aminés codées par les séquences nucléotidiques correspondantes chez les PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV, ou de virus, nouveaux ou non, comportant 30 des séquences apparentées aux SU des PTLV, le cas échéant dans de nouveaux contextes pathologiques, lesdits procédés comprenant une étape d'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir des PTLV, et à l'aide des oligonucléotides 5' et 3' dégénérés susmentionnés utilisés en tant qu'amorces, du nombre de copies de fragments

nucléotidiques délimités en position 5' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 5', et en position 3' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 3', et une étape d'identification de la souche de PTLV contenue dans l'échantillon biologique à partir des fragments nucléotidiques amplifiés susmentionnés.

5 L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que lesdits oligonucléotides sont choisis parmi ceux comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un
10 acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, lesdits oligonucléotides dégénérés comprenant un mélange d'oligonucléotides issus de séquences codant pour une
15 région déterminée d'environ 5 à 10 acides aminés des protéines d'enveloppe des différents souches de PTLV, et qui diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de
20 HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche STLV-3 susmentionnées.

L'invention a également plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus de séquences nucléotidiques codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques
25 délimités par les acides aminés situés aux positions 80 à 245, et plus particulièrement aux positions 83 à 241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 (Gray et al., 1990, *Virology*, 177 : 391-395 ; n° d'accès Genbank M37747) représentée par SEQ ID NO : 43.

L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée de
30 couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, issus de séquences nucléotidiques codant pour les fragments polypeptidiques 83-88, 140-145, 222-228, et 237-241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, à savoir les fragments suivants :

83-YL/VFPHW-88

140 - NFTQ/REV - 145

222-NYS/TCI/MVC-228

237-WHVLY-241

5 L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

- le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTNTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

10 dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAYTTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

20 dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

25 telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PILVE5'140a AAYTTYACNCAGAGT SEQ ID NO : 9

PILVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PILVE5'140c AAYTTYACNCAGAGGT SEQ ID NO : 11

PILVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

30 Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne plus particulièrement encore l'utilisation susmentionnée, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

NACYTCYTGNNGTRAARTT (III) SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

5 Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'145a NACYTCYTGNNTAAAATT SEQ ID NO : 14

10 PILVE3'145b NACYTCYTGNNTGAAATT SEQ ID NO : 15

PILVE3'145c NACYTCYTGNNTAAAGTT SEQ ID NO : 16

PILVE3'145d NACYTCYTGNNTGAAAGTT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2

15 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

20 S représente C ou G,

W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'228a RMNACNATRCANSATAATT SEQ ID NO : 19

25 PILVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAATT SEQ ID NO : 20

PILVE3'228c RMNACNATRCANSATAAGTT SEQ ID NO : 21

PILVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGIT SEQ ID NO : 22

PILVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PILVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAATT SEQ ID NO : 24

30 PILVE3'228g RMNACNATRCANSTATAAGIT SEQ ID NO : 25

PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

- ou le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA

(V)

SEQ ID NO : 27

dans laquelle :

5 R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'241a RTANARNACATGCCA

SEQ ID NO : 28

PTLVE3'241b RTANARNACCTGCCA

SEQ ID NO : 29

10 R, et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus, comportant à leur extrémité 5' une séquence comprenant un site de restriction, tels que les sites EcoRI, de séquence GAATTC, ou BamHI, de séquence GGATCC.

15 A ce titre, l'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tel que définis ci-dessus, caractérisés en ce que les oligonucléotides 5' issus du brin ADN (+) correspondant aux fragments polypeptidiques 83-88 ou 140-145 comprennent en 5' une séquence GGAAGAACATTC, et en ce que les oligonucléotides 3' issus du brin ADN (-) correspondant aux fragments polypeptidiques 140-145, 222-228, et 237-241 20 comprennent en 5' une séquence GGAAGGATCC.

L'invention a également pour objet l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus en tant que sondes, le cas échéant marquées, pour la mise en œuvre de procédés de détection susmentionnés de PTLV et de souches apparentées.

25 L'invention concerne également l'utilisation susmentionnée d'oligonucléotides tels que définis ci-dessus, en tant que couples d'amores nucléotidiques pour la mise en œuvre de réactions de polymérisation en chaîne (PCR) pour la détection de toute souche de PTLV, ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples d'amores choisis de telle manière que :

30 - les oligonucléotides dégénérés 5' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 5' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (+) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un

acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la

5 position 83 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 5' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, 10 telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STLV-3 susmentionnées,

- les oligonucléotides dégénérés 3' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 3' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus du brin ADN (-) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à

15 environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 125 à 145, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la 20 position 140 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 3' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, 25 telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STLV-3 susmentionnées,

étant bien entendu que lesdites amores 5' et 3' susmentionnées ne peuvent pas être complémentaires l'une de l'autre.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples 30 d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formules (I) et (II) susmentionnées, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) susmentionnées.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples d'amorces tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que l'amorce 5' est choisie parmi les oligonucléotides 5' issus du brin ADN (+) correspondant aux fragments polypeptidiques 83 - 88 ou 140-145 définis ci-dessus, telles que les amorces PTLVE 5'83 a et b et PTLVE 5' 140 a 5 à d susmentionnés, et en ce que l'amorce 3' est choisie parmi les oligonucléotides 3' issus du brin ADN (-) correspondant aux fragments polypeptidiques 140 - 145, 222 - 228 ou 237 - 241 définis ci-dessus, telles que les amorces PTLVE 3'145 a à d, PTLV3'228 a à h, et PTLVE 3'145 a à d, PTLV 3'228 a à h, et PTLVE 3'241 a et b susmentionnées.

L'invention a plus particulièrement pour objet l'utilisation susmentionnée de couples 10 d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, lesdits oligonucléotides étant choisis de manière à ce qu'ils permettent l'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir de l'ADN de PTLV, de séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques comprenant une séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 139 de la 15 protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou comprenant une séquence analogue comprise dans la protéine d'enveloppe d'une autre souche de PTLV que HTLV-1, telle que la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 135 de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la 20 séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 144 de la protéine d'enveloppe de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

L'invention a plus particulièrement pour objet encore l'utilisation susmentionnée de couples 25 d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formule (I) susmentionnée, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) susmentionnées.

L'invention concerne plus particulièrement l'utilisation susmentionnée de couples d'oligonucléotides dégénérés tels que définis ci-dessus, caractérisée en ce que :

30 - les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :
 PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5
 Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,
 - les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PILVE5'145a NACYTCYTGNGTAAAATT SEQ ID NO : 14

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne également les oligonucléotides tels que définis ci-dessus, en tant que tels.

5 A ce titre, l'invention a plus particulièrement pour objet les oligonucléotides tels que définis ci-dessus, correspondants :

- aux oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

* le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

10 TAYBTNTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

15 telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

20 AAYTTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

Y représente C ou T,

25 R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PILVE5'140a AAYTTYACNCAAGAAGT SEQ ID NO : 9

PILVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

30 PILVE5'140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PILVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- aux oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :
* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche
MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III)
suivante :

5 NACYTCYTGNGTRAARTT (III) SEQ ID NO:13

dans laquelle :

Y représente C ou T.

R représente A ou G

N représente A, C, G ou T.

10 telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTLVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAATT SEQ ID NO : 14

PTLVE3'145b NACYTCTGNGTGAATT SEQ ID NO : 15

PTI/VE3'145c NACYTGYTGNGTAAAGTT SEQ ID NO : 16

PT1.VE3'145d NACYTCTTGCTGAAGTT SEO ID NO : 17

15 Y et N étant tels que définis ci-dessus

* le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO: 18

20 dans laquelle :

R représente A ou G

M représente A ou C

S représente C ou G

W représente A ou T

25 N représente A, C, G ou T

telles que les amorces oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PTI VE3'22% BMNACNATRCANEATAATT SEQ ID NO: 10

PTI VE3228- BMNAGNATRMANUFACTURE SEO ID NO : 30

DOI 10.1142/S021945762250021X © 2022 by World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.

36 POLY(URIDYLIC ACID) ANALOGUE INHIBITS HEPATITIS C VIRUS REPLICATION 1000

SEARCHED INDEXED SERIALIZED FILED NOV 22 1968

PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGTT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

* le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche
5 MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V)
souvrante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

10 telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

15 L'invention a également pour objet un procédé de détection de toute souche de PTLV, à
savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3,
ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV,
telles que définies ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

- la mise en contact d'un couple d'oligonucléotides dégénérés 5' et 3' tels que définis ci-dessus, avec l'ADN génomique ou l'ADN complémentaire dérivé à partir d'ARN extraits du
20 contenu d'un échantillon biologique (tels que cellules sanguines, de moelle osseuse, biopsies,
notamment de peau ou autres organes, ou frottis) susceptible de contenir des PTLV tels que
définis ci-dessus,

- l'amplification de fragments d'ADN codant pour un fragment des protéines
d'enveloppe des différentes souches des PTLV tel que défini ci-dessus,

25 - la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection
pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV tels que définis
ci-dessus dans ledit échantillon biologique.

L'invention concerne également un procédé de détection de toute souche de PTLV tel
que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'amplification comprend la mise en œuvre
30 de deux réactions d'amplification, la deuxième réaction étant effectuée sur un échantillon de
produits obtenus dans le cadre de la première réaction à l'aide des mêmes oligonucléotides 5'
que dans le cas de la première réaction, et d'oligonucléotides 3' différents de ceux utilisés
dans la première réaction, à savoir des amores 3' dites « nichées » hybrideant avec une région

située plus en amont de la séquence codant pour la SU que les amorces 3' utilisées dans la première réaction.

L'invention a également pour objet un procédé de détection de toute souche de PTLV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

5 - une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis parmi les couples :

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (IV), ou

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (V), ou

* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (V),

10 - et une deuxième étape d'amplification du nombre de copies de fragments d'ADN obtenus lors de l'étape précédente à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis respectivement parmi les couples :

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III), ou

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III ou IV), ou

15 * oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (IV),

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV dans l'échantillon biologique.

L'invention concerne également un procédé de détection de toute souche de PTLV tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

25 Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (V) suivante :

PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus,

- une deuxième réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PILVE3'145a NACYTCYTGNNTAAAATT SEQ ID NO : 14

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

L'invention concerne plus particulièrement un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape d'amplification est effectuée dans les conditions suivantes :

– dénaturation à 94°C pendant 5 min,

– une première réaction PCR en conditions dites de « touch down » effectuée dans un milieu contenant de la Taq polymérase ou autres ADN polymérases fonctionnant à haute 10 température, cette première réaction PCR comprenant :

• 15 cycles d'affilée « touch down » variant par la température d'elongation qui diminue de 1°C à chaque cycle comprenant :

* une étape de dénaturation à 94°C pendant 15 sec,

* une étape combinant appariement et élongation à une température variant 15 entre 65°C et 50 °C pendant 20 sec,

• 30 cycles classiques comprenant :

* une étape de dénaturation à 94°C pendant 15 sec,

* une étape d'appariement à 50°C pendant 30 sec,

* une étape d'elongation à 72°C pendant 30 sec,

20 – une deuxième réaction PCR effectuée sur un échantillon de produits obtenus dans le cadre de la première réaction PCR susmentionnée à l'aide de la même amorce 5' que dans le cas de la réaction PCR précédente, et d'une amorce 3' différente de celle utilisée dans la réaction PCR précédente, à savoir une amorce 3' dite « nichée » hybrideant avec une région située plus en amont de la séquence codant pour la SU que l'amorce 3' utilisée à l'étape 25 précédente.

L'invention a plus particulièrement pour objet un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce que l'étape de détection, et le cas échéant d'identification, est effectuée dans les conditions suivantes :

30 - ligation directe des fragments amplifiés lors de l'étape d'amplification dans un plasmide tel que pCR4-TOPO (Invitrogen),

- transformation de bactéries avec le plasmide susmentionné comprenant un gène marqueur tel qu'un gène de résistance à un antibiotique, notamment à la kanamycine,

- repiquage de colonies bactériennes (notamment entre 10 et 100), culture, extraction de l'ADN, et séquençage (notamment à l'aide des amores universelles T3 ou T7 dans le cas de l'utilisation du vecteur pCR4-TOPO).

5 L'invention concerne également une trousse ou kit pour la mise en œuvre d'un procédé de détection tel que défini ci-dessus, caractérisé en ce qu'il comprend un couple d'oligonucléotides dégénérés susmentionnés, et, le cas échéant, les réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la réaction d'amplification par PCR et pour la détection des fragments amplifiés.

10 L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus au diagnostic de pathologies liées à une infection par un PTLV, ou par un virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, chez l'homme ou l'animal, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires, les maladies dégénératives.

15 A ce titre, l'invention concerne toute méthode de diagnostic *in vitro* de pathologies susmentionnées par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, la détection de fragments d'ADN amplifiés pouvant être corrélée au diagnostic desdites pathologies.

Le cas échéant, les méthodes de diagnostic *in vitro* de l'invention comprenant une étape supplémentaire d'identification de PTLV ou virus apparentés aux PTLV présents dans l'échantillon biologique, par séquençage des fragments d'ADN amplifiés.

20 L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus, au criblage et à l'identification de nouveaux agents infectieux chez l'homme ou l'animal, et plus particulièrement de nouvelles souches (ou variants) de virus susceptibles d'être classés dans les PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV.

25 Les méthodes de criblage et d'identification susmentionnées de nouveaux agents infectieux sont effectuées par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus et comprennent une étape supplémentaire d'identification des nouveaux variants de PTLV ou de virus apparentés par séquençage des fragments d'ADN amplifiés.

30 L'invention concerne également l'application du procédé de détection défini ci-dessus au criblage de gènes de prédisposition ou de résistance à des pathologies chez l'homme ou l'animal liées à la présence de séquences des PTLV ou de séquences apparentées, ou à une infection par un PTLV, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies dégénératives.

L'invention a également pour objet l'application du procédé de détection défini ci-dessus, au criblage ou à la conception de nouveaux agents thérapeutiques comprenant des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

5 L'invention concerne également l'application du procédé de détection tel que défini ci-dessus, au criblage ou à la conception de nouveaux vecteurs de thérapie cellulaire utilisant les propriétés de tropisme des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

10 L'invention a également pour objet les variants de type HTLV-1 tels qu'obtenus par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, correspondants :

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 31 suivante :

15

I	K	K	P	N	<u>P</u>	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 30 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CCA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA¹ TGG ACC TGC CCC TAT
25 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés.

30 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 33 suivante :

<u>V</u>	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

5 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 32 suivante :

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
 CCT TGT TCC **TTA AAA** TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
 10 **ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC**

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés.

15 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 35 suivante :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 34 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT **TTA** GCC TCT TAT TCA GAC
 CCT TGT TCC **TTA AAA** TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT **CAA CAA** GAT GTC

30 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés.

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 37 suivante :

35 I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D

P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	P	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans 5 laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 36 suivante :

GTT	AAA	AAG	CCA	AAC	CGA	AAT	GGC	GGG	GGC	TAT	TAT	TTA	GCC	TCT	TAT	TCA	GAC
CCT	TGT	TCC	TTA	AAA	TGC	CCA	TAC	CTG	GGG	TGC	CAA	TCA	TGG	ACC	TGC	CCC	TAT
ACA	<u>GGA</u>	<u>CCC</u>	GTC	TCC	AGC	CCC	TAC	TGG	AAG	TTT	CAG	CAA	GAT	GTC			

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

15 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 39 suivante :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	<u>H</u>	S	A	S	Y	S	D	P
C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y	<u>A</u>	G
A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V	N	F	T	Q	E	V

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

25 et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 38 suivante :

ATT	AAA	AAG	CCA	AAC	CGA	AAT	GGC	GGG	GGC	TAT	<u>CAT</u>	TCA	GCC	TCT	TAT	TCA	GAC
GAC	CCT	TGT	TCC	TTA	AAG	TGC	CCA	TAC	CTG	GGG	TGC	CAA	TCA	TGG	ACC	TGC	CCC
CCC	TAT	<u>GCA</u>	<u>GGA</u>	<u>GCC</u>	<u>GTC</u>	TCC	AGC	CCC	TAC	TGG	AAG	TTT	CAG	CAA	GAT	GTC	AAT
AAT	TTT	<u>ACC</u>	<u>CAG</u>	<u>GAA</u>	<u>GTA</u>												

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A 15 indiqués en gras et soulignés.

L'invention a également pour objet le variant de type HTLV-2 tel qu'obtenu par mise en œuvre d'un procédé de détection défini ci-dessus, caractérisé en ce que:

- sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO :

41 suivante :

5 I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D
 P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y
 T A P V S T P S W N F H S D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2 (décrite par Lee et al., 1993. Virology 196, 57-69 ; n° d'accès Genbank L20734.1), dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés,

15 - la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 40 suivante :

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés.

25 L'invention concerne également les polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV, ou délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 desdites protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV.

L'invention a également pour objet les polypeptides définis ci-dessus, choisis parmi :

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 ou 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 139 ou 145, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43,

5 - le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 79 ou 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 135 ou 141, de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45,

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 82 ou 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 138 ou 144, de la protéine 10 d'enveloppe de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

L'invention concerne également les polypeptides codés par les fragments d'ADN amplifiés dans le cadre du procédé de détection défini ci-dessus, des variants de type HTLV-1 à HTLV-2 susmentionnés, caractérisés en ce qu'ils comprennent les séquences peptidiques suivantes :

15 - polypeptide 1 (SEQ ID NO : 31) :

I	K	K	P	N	<u>P</u>	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés 20 aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

-polypeptide 2 (SEQ ID NO : 33):

V	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés 30 aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 3 (SEQ ID NO : 35):

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	<u>L</u>	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y

T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en

5 gras et souligné.

- polypeptide 4 (SEQ ID NO : 37):

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
T G P V S S P Y W K F Q Q D V

10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

- polypeptide 5 (SEQ ID NO : 39):

I K K P N R N G G G Y H S A S Y S D P
C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y A G
A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E V

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 6 (SEQ ID NO : 41):

I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D
P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y
T A P V S T P S W N F H S D V

30 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2, dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N) indiqués en gras et soulignés.

L'invention a également pour objet les acides nucléiques caractérisés en ce qu'ils codent pour un polypeptide tel que défini ci-dessus.

L'invention concerne plus précisément les acides nucléiques susmentionnés, comprenant les séquences nucléotidiques suivantes :

- acide nucléique 1 a (SEQ ID NO : 30) :

5 ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont 10 respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 1 susmentionné,

- acide nucléique 2 a (SEQ ID NO : 32) :

15 GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont 20 respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 2 susmentionné,

- acide nucléique 3 a (SEQ ID NO : 34) :

25 ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont 30 respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 3 la revendication 24,

- acide nucléique 4 a (SEQ ID NO : 36) :

35 GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT

ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

5 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 4 susmentionné,

- acide nucléique 5 a (SEQ ID NO : 38):

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA
GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC
10 CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC
AAT TTT ACC CAG GAA GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

15 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 5 susmentionné,

- acide nucléique 6 a (SEQ ID NO : 40):

20 ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC
CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC
ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

25 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés,

30 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 6 susmentionné.

L'invention concerne également les anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre un nouveau variant de type HTLV - 1 ou HTLV - 2 tel que défini ci-dessus, ou contre un polypeptide défini ci-dessus, lesdits anticorps étant tels qu'obtenus par immunisation d'un animal approprié avec un polypeptide susmentionné.

L'invention a également pour objet toute composition pharmaceutique, notamment vaccins ou vecteurs thérapeutiques, conçus à partir des nouveaux variants de type HTLV-1 ou HTLV-2 tels que définis ci-dessus, et plus particulièrement toute composition pharmaceutique comprenant un polypeptide selon l'invention tel que défini ci-dessus, notamment les 5 polypeptides 1 à 6 définis ci-dessus, ou un acide nucléique 1a à 6a défini ci-dessus, ou des anticorps susmentionnés, le cas échéant en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

L'invention concerne également l'utilisation des nouveaux variants de type HTLV-1 ou HTLV-2 tels que définis ci-dessus, ou des polypeptides selon l'invention tels que définis ci- 10 dessus, notamment des polypeptides 1 à 6, ou des acides nucléiques 1a à 6a définis ci-dessus, ou des anticorps susmentionnés, pour la préparation de médicaments destinés à la prévention ou au traitement des infections d'un individu par les PTLV susmentionnés, ainsi que des pathologies définies ci-dessus liées à l'infection par ces PTLV.

L'invention sera davantage illustrée à l'aide de la description détaillée qui suit de 15 l'obtention d'amorces selon l'invention et de leur utilisation pour la détection de nouveau variants de HTLV.

**I. MISE AU POINT D'OUTILS MOLECULAIRES ET DE STRATEGIES DE
DETECTION DE SEQUENCES PAN-PTLV PAR AMPLIFICATION, CLONAGE ET
SEQUENÇAGE, DE SEQUENCES NUCLEOTIDIQUES APPARENTÉES AUX SU
DES ENVELOPPES PTLV.**

1. Recherche de motifs peptidiques conservés en N-terminus des SU de PTLV

La question principale résolue par les inventeurs est la mise au point d'outils et d'une 25 méthode permettant d'amplifier, de cloner et d'identifier toute séquence nucléotidique apparentée à la SU des PTLV qui est responsable de la reconnaissance de leur récepteur cellulaire (Kim et coll, 2000). Pour cela, les inventeurs ont cherché des motifs peptidiques conservés dans la SU des enveloppes de PTLV pour en déduire des séquences nucléotidiques permettant de les représenter toutes. Ces motifs peptidiques devaient répondre idéalement aux 30 5 critères suivants, selon leur importance décroissante:

- Etre conservés parmi la plupart, sinon la totalité, des séquences déjà décrites d'enveloppes de PTLV. Une telle conservation serait une garantie de leur efficacité potentielle dans la détection de nouvelles séquences de type PTLV.

- Représenter au moins 5 acides aminés conservés de la SU des PTLV, afin d'en dériver une séquence minimale de 15 nucléotides. En effet, étant donnée la complexité des génomes eucaryotes, ce minimum de 15 nucléotides est requis pour permettre la détection spécifique d'une séquence nucléotidique donnée.

5 - Permettre l'amplification de séquences situées en amont du motif C I/M V C qui est conservé dans la SU des PTLV et semble analogue au motif CWLC décrit dans la SU des MuLV (Sitbon et coll, 1991). Ce motif semble en effet, marquer une région charnière entre, en son amont, la partie de la SU responsable de la reconnaissance du récepteur et, en son aval, les domaines carboxy terminaux de la SU impliqués dans l'association avec la TM et des étapes 10 de l'entrée virale postérieures à la reconnaissance du récepteur (Battini, et coll, 1992; Battini et coll, 1995; Lavillette et coll, 1998; Kim et coll, 2000; Lavillette et coll, 2001). Etre suffisamment distants les uns des autres pour permettre l'amplification d'un fragment dont la longueur augmenterait les chances de détection d'un polymorphisme éventuel entre différentes séquences.

15 - Etre situés de façon à permettre deux réactions d'amplifications d'ADN successives, dont la deuxième, nichée, est réalisée à partir des produits de la première amplification, et permettrait l'amplification d'un fragment interne au premier fragment amplifié. Cette amplification nichée permettrait d'augmenter la probabilité d'amplification d'un fragment qui corresponde bien à une séquence apparentée à la SU des PTLV.

20 Selon ces critères, les inventeurs ont identifié les motifs d'acides aminés suivants, présents dans toutes ou la quasi-totalité des SU connues de PTLV, et pouvant se prêter au développement de cette stratégie :

- Motif peptidique 1 : Y L/V F P H W
- 25 - Motif peptidique 2 : N F T Q/R E V
- Motif peptidique 3 : N Y S/T C I/M V C
- Motif peptidique 4 : W H V L Y

30 **2. Oligonucléotides dégénérés de synthèse correspondant aux motifs conservés dans la partie amino terminale de la SU des PTLV**

À partir des séquences d'acides aminés des motifs peptidiques conservés identifiés ci-dessus et suivant la correspondance nucléotidique en application du code génétique eucaryote, les inventeurs ont déterminé des séquences nucléotidiques dégénérées (SND) qui ont servi de

base pour la conception d'oligonucléotides de synthèse (OS). Plusieurs critères ont présidé à la conception d'OS correspondants à ces SND :

- Lorsque la multiplication des positions dégénérées dans une SND faisait que la complexité de l'OS correspondant dépasse 512 oligonucléotides dans le mélange de synthèse,

5 la synthèse d'OS supplémentaires pour cette SND est alors effectuée pour lever une partie de cette complexité.

- La synthèse d'un ou 2 OS supplémentaires, dans la limite de 4 OS par SND, est effectuée même pour des complexités inférieures à 512, lorsque ces OS supplémentaires lèvent significativement la complexité de l'OS dégénéré initial.

10 - Les séquence des OS 5', dont l'elongation par les polymérases d'ADN doit correspondre aux acides aminés situés en aval du motif peptidique considéré (motifs 1 et 2), sont celles du brin ADN (+), alors que celles des OS 3', à partir desquels l'elongation doit correspondre aux acides aminés situés en amont du motif peptidique considéré (motifs 2, 3 et 4), sont celles du brin ADN (-). Les OS correspondants au motif peptidique 2 ont été 15 synthétisés sur les deux brins, pour pouvoir effectuer une elongation dans les deux sens.

- Chaque OS comprend des nucléotides supplémentaires permettant d'introduire en 5' la séquence correspondant à un site de restriction, EcoRI pour les OS 5', BamHI pour les OS 3', et dans tous les cas une séquence GGAA 5'-terminale favorisant l'arrimage des polymérases et nucléases en amont du site de restriction.

20 - Suivant ces critères, les OS PTLVE5' (83 a et b, 140 a à d) et PTLVE3' (145 a à d, 228 a à h, 241 a et b) (pour *Primate T-Leukemia Virus-like Env*), définis ci-dessus ont été synthétisés respectivement pour des elongations en 5' ou 3' du motif ciblé.

25 3. Mise au point des conditions d'amplification avec les oligonucléotidiques sur des séquences témoins

Pour la mise au point de l'amplification de séquences reconnues par les OS décrits ci-dessus, les inventeurs ont utilisé des préparations ADN témoins de plasmide contenant la séquence d'enveloppe HTLV-1 et des préparations témoins dépourvues de cette séquence. La 30 stratégie d'amplification d'ADN qui a été sélectionnée consiste à enchaîner deux réactions d'amplification par un mélange des polymérases Taq et Pwo sur thermocycler dans les conditions dites de "touch-down" et combinant 2 couples d'OS différents.

Les premiers résultats d'amplification probants et reproductibles (amplification spécifiques de séquences HTLV sans amplification sur les préparations témoins) sont ceux obtenus avec la combinaison des OS PTLVE5'83b et PTLVE3'240b, pour la première réaction d'amplification, suivie d'une 2^{ème} réaction combinant les OS PTLVE5'83b et 5 PTLVE3'146a sur un échantillon de la 1^{ère} réaction. Dans les deux cas les conditions de "touch-down" incluent 15 cycles combinant chacun dénaturation à 94°C suivi d'une étape d'appariement et d'elongation effectuée à la même température, cette température étant comprise pour chaque cycle entre 65 et 50°C avec un pas décroissant de 1°C entre le 1^{er} et le 15^è cycle. Ces 15 cycles sont suivis de 30 cycles classiques d'amplification avec une 10 température d'appariement à 50°C et d'elongation à 72°C.

4. Construction et séquençage d'une banque de fragments amplifiés à partir des réactions d'amplification

Un échantillon de la 2^{ème} réaction d'amplification décrite ci-dessus est utilisé pour 15 générer une banque des séquences amplifiées. Pour cela 4 µl sur les 50 µl de la 2^{ème} réaction est utilisé pour ligation dans un vecteur de type pCR4-TOPO (Invitrogen) et transformation de bactéries. Entre 10 et 100 colonies résistantes à la kanamycine sont repiquées pour chaque ligation et mises en culture. L'ADN plasmidique de chaque colonie est analysé par séquençage en utilisant des séquences amores universelles T3 et T7 du vecteur.

20

II PREMIERS RESULTATS OBTENUS A PARTIR D'ECHANTILLONS HUMAINS ET DE PRIMATES

Les conditions décrites ci-dessus ont été appliquées à trois types d'échantillons d'ADN :

25 - Des échantillons d'ADN génomique de "patients séroindéterminés", caractérisés par une sérologie suggérant une infection antérieure par HTLV mais chez lesquels aucun diagnostic définitif n'a pu être établi. Chez ces patients, notamment, une recherche par amplification d'ADN de séquences HTLV *gag*, *pol* ou *tax* sont négatives.

- Des échantillons d'ADN génomique de "patients HTLV-1" chez lesquels une infection 30 HTLV-1 caractéristique a été identifiée.

- Des échantillons d'ADN génomique de singes Mangabey agiles (*Cercocebus Agilis*) qui présentent une sérologie PTLV positive et chez lesquels des séquences Tax HTLV-1 ou STLV-L ont pu être amplifiées.

L'application de la méthode décrite ci-dessus a permis de détecter la présence de séquences de type SU de PTLV chez les trois types d'échantillons, y compris chez les "patients séroindéterminés".

5 L'analyse des séquences et de leurs capacités codantes au niveau de la région de SU concernée a permis de faire les observations suivantes:

1. Résultats obtenus sur "patients séroindéterminés"

En appliquant la méthode décrite ci-dessus sur l'ADN d'un "patient séroindéterminé" (échantillon No. 424), décrit comme ne portant pas de séquence de type HTLV, les inventeurs 10 ont pourtant pu amplifier et caractériser des séquences de type SU de PTLV.

Au niveau nucléotidique, les séquences identifiées à partir de l'échantillon No. 424 sont de plusieurs types : des séquences HTLV-1 identiques à celles déjà décrites dans la littérature et de nouveaux variants. Au niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

15 - Des séquences d'acides aminés identiques à celles des souches HTLV-1 déjà connues.
- Des variants de souches HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus jamais décrits auparavant.
- Des variants de souches HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus décrits comme communs aux 20 seules souches HTLV-2 ou STLV-L.

2. Résultats obtenus sur "patients HTLV-1 typiques"

Au niveau nucléotidique, les séquences amplifiées à partir de l'échantillon provenant du "patient HTLV-1" (échantillon No.422) sont soit typiquement HTLV-1, telles que déjà décrites dans la littérature, soit des variants avec des répercussions sur la capacité codante. Au niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

25 - Des séquences d'acides aminés identiques aux souches connues HTLV-1.
- Des variants HTLV-1 avec 1 ou 2 résidus typiques des HTLV-2, combinés ou pas avec des résidus jamais décrits auparavant.
- Des variants HTLV-2 combinant quelques résidus décrits pour être communs aux 30 seules souches HTLV-2 ou STLV-L, ceci combinés ou pas avec des résidus jamais décrits auparavant.

3. Résultats obtenus sur singes *Cercocébus Agilis*

La méthode de l'invention a aussi permis d'amplifier des séquences de type SU de PTLV chez tous les Mangabey Agiles (*Cercocébus Agilis*) testés qui avaient été identifiés comme séropositifs pour PTLV. Au niveau nucléotidique, les séquences amplifiées à partir de 5 ces singes sont soit celles des isolats déjà décrits auparavant, soit des variants nucléotidiques avec répercussions sur la capacité codante. Au niveau codant, les séquences nucléotidiques se traduisent en trois types de séquences :

- Des séquences d'acides aminés identiques aux souches connues HTLV-1.
- Des séquences d'acides aminés identiques à l'isolat STLV-3/CTO-604 tout récemment 10 décrit chez un Mangabey à tête rouge (*Cercocébus Torquatus*) (Meertens et coll, 2002)
- Des séquences d'acides aminés du type STLV-3/CTO-604 avec 1 ou 2 résidus typiques des HTLV-2

III. BIBLIOGRAPHIE

15 1.Battini, J. L., O. Danos, and J. M. Heard. 1995. Receptor-binding domain of murine leukemia virus envelope glycoproteins. *J Virol.* 69(2):713-719.

2.Battini, J. L., J. M. Heard, and O. Danos. 1992. Receptor choice determinants in the envelope glycoproteins of amphotropic, xenotropic, and polytropic murine leukemia viruses. *J Virol.* 66(3):1468-75.

20 3.Kim, F. J., I. Sciliez, C. Denesvre, D. Lavillette, F. L. Cosset, and M. Sitbon. 2000. Definition of an amino-terminal domain of the human T-cell leukemia virus type 1 envelope surface unit that extends the fusogenic range of an ecotropic murine leukemia virus. *J Biol Chem.* 275(31):23417-20.

25 4.Lavillette, D., M. Maurice, C. Roche, S. J. Russell, M. Sitbon, and F. L. Cosset. 1998. A proline-rich motif downstream of the receptor binding domain modulates conformation and fusogenicity of murine retroviral envelopes. *J Virol.* 72(12):9955-65.

5.Lavillette, D., A. Ruggieri, S. J. Russell, and F. L. Cosset. 2000. Activation of a cell entry pathway common to type C mammalian retroviruses by soluble envelope fragments. *J Virol.* 74(1):295-304.

30 6.Meertens, L., R. Mahieux, P. Maucere, J. Lewis, and A. Gessain. 2002. Complete Sequence of a Novel Highly Divergent Simian T-Cell Lymphotropic Virus from Wild-Caught

Red-Capped Mangabeys (*Cercocebus torquatus*) from Cameroon: a New Primate T-Lymphotropic Virus Type 3 Subtype. *J. Virol.* 76(1):259-268.

7. **Sitbon, M., L. d'Auriol, H. Ellerbrok, C. Andre, J. Nishio, S. Perryman, F. Pozo, S. F.**

Hayes, K. Wehrly, P. Tambourin, F. Galibert, and B. Chesebro. 1991. Substitution of

5 leucine for isoleucine in a sequence highly conserved among retroviral envelope surface glycoproteins attenuates the lytic effect of the Friend murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88(13):5932-6.

REVENDICATIONS

1. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' et 3' issus des séquences nucléotidiques codant pour la région aminoterminal de la composante de surface 5 (SU) des protéines d'enveloppe des virus des lymphomes / leucémies T chez les primates, regroupés sous la désignation PTLV, ces virus étant encore désignés HTLV chez l'homme et 10 STLV chez le singe, à savoir de la région correspondant aux fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des 15 PTLV,

pour la mise en œuvre de procédés de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus apparentés aux PTLV, à savoir de toute souche dont la séquence en 20 acides aminés déduite de la séquence nucléotidique codant pour la région aminoterminal de la SU présente un taux d'homologie d'au moins environ 30% avec les séquences en acides aminés codées par les séquences nucléotidiques correspondantes chez les PTLV, notamment pour la détection de nouveaux variants des PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, lesdits procédés comprenant une étape d'amplification, à 25 partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir des PTLV, et à l'aide des oligonucléotides 5' et 3' dégénérés susmentionnés utilisés en tant qu'amorces, du nombre de copies de fragments nucléotidiques délimités en position 5' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 5', et en position 3' par l'oligonucléotide dégénéré en orientation 3', et une étape d'identification de la souche de PTLV contenue dans l'échantillon biologique à partir des fragments nucléotidiques amplifiés susmentionnés.

2. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits oligonucléotides sont choisis parmi ceux comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus des séquences nucléotidiques codant pour des fragments 30 protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou la souche NRA de HTLV-2

représentée par SEQ ID NO : 45, ou la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, lesdits oligonucléotides dégénérés comprenant un mélange d'oligonucléotides issus de séquences codant pour une région déterminée d'environ 5 à 10 acides aminés des protéines d'enveloppe des différents souches de PTLV, et qui diffèrent entre eux par substitution d'au 5 moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, ou la souche NRA de HTLV-2, ou la souche de STLV-3 susmentionnées.

10

3. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 1 ou 2, comprenant environ 15 à environ 30 nucléotides issus de séquences nucléotidiques codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités par les acides aminés situés aux positions 80 à 245, et plus 15 particulièrement aux positions 83 à 241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43.

4. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 3, issus de séquences nucléotidiques codant pour les fragments polypeptidiques 83-88, 140-20 145, 222-228, et 237-241, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, à savoir les fragments suivants :

83-YL/VFPHW-88	SEQ ID NO : 1
140-NFTQ/REV-145	SEQ ID NO : 2
222-NYS/TCI/MVC-228	SEQ ID NO : 3
25 237-WHVLY-241	SEQ ID NO : 4

5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :
 - le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de 30 HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTNTTYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNTTYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de

HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAYTTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PILVE5'140a AAYTTYACNCAAGAAAGT SEQ ID NO : 9

PILVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PILVE5'140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PILVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus.

6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, d'oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

- le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

NACYTCYTGNNGTRAARTT (III) SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'145a NACYTCYTGNNTAAATT SEQ ID NO : 14

PILVE3'145b NACYTCYTGNNTGAAATT SEQ ID NO : 15

PILVE3'145c NACYTCYTGNNTAAAGIT SEQ ID NO : 16

PILVE3'145d NACYTCYTGNNGAAGIT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

5 RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

S représente C ou G,

10 W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'228a RMNACNATRCANSATAATT SEQ ID NO : 19

PILVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAATT SEQ ID NO : 20

5 PILVE3'228c RMNACNATRCANSATAAGTIT SEQ ID NO : 21

PILVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGTT SEQ ID NO : 22

PILVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PILVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAATT SEQ ID NO : 24

PILVE3'228g RMNACNATRCANSTATAAGT SEQ ID NO : 25

10 PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

- le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de

HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA (V) SEQ ID NO : 27

5 dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'241a RTANARNACATGCCA SEQ ID NO : 28

0 PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

7. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 6, de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

- les oligonucléotides dégénérés 5' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 5' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30

5 nucléotides issus du brin ADN (+) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides 0 aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 5' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée .5 issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV,

- les oligonucléotides dégénérés 3' correspondent à un mélange d'oligonucléotides 3' issus d'une même région nucléotidique déterminée comprenant environ 15 à environ 30

10 nucléotides issus du brin ADN (-) et codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus de fragments protéiques délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 125 à 145, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, notamment codant pour des fragments polypeptidiques d'environ 5 à environ 10 acides aminés issus du fragment protéique délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 140 et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 241 de la protéine 15 d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides 3' étant tels qu'ils diffèrent entre eux par substitution d'au moins un nucléotide par un autre de manière à ce que chaque oligonucléotide soit susceptible de coder pour la région déterminée susmentionnée issue des fragments protéiques des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV,

étant bien entendu que lesdites amores 5' et 3' susmentionnées ne peuvent pas être

0 complémentaires l'une de l'autre.

8. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les

oligonucléotides 5' de formules (I) et (II) selon la revendication 5, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) selon la revendication 6.

5 9. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon l'une des revendications 1 à 8, lesdits oligonucléotides étant choisis de manière à ce qu'ils permettent l'amplification, à partir d'un échantillon biologique susceptible de contenir de l'ADN de PTLV, de séquences nucléotidiques codant pour des fragments protéiques comprenant une séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé 10 situé en position 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou comprenant une séquence analogue comprise dans la protéine d'enveloppe d'une autre souche de PTLV que HTLV-1, telle que la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé 15 situé en position 135 de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou la séquence délimitée du côté N-terminal par l'acide aminé situé en position 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé en position 144 de la protéine d'enveloppe de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

10. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 9, caractérisée en ce que les oligonucléotides dégénérés 5' sont choisis parmi les oligonucléotides 5' de formule (I) selon la revendication 5, et en ce que les oligonucléotides dégénérés 3' sont choisis parmi les oligonucléotides 3' de formules (III) à (V) selon la revendication 6.

11. Utilisation de couples d'oligonucléotides dégénérés selon la revendication 9 ou 10,
5 caractérisée en ce que :

- les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :
PTLVES'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5
Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,
- les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :
PTLVE3'145a NACYTCYTGNGTAAAATT SEQ ID NO : 14
Y et N étant tels que définis dans la revendication 6.

12. Oligonucléotides tels que définis dans l'une des revendications 1 à 6.

13. Oligonucléotides selon la revendication 12, correspondants :

- aux oligonucléotides dégénérés en orientation 5' issus du brin ADN (+) codant pour :

* le fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-

5 2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (I) suivante :

TAYBTNITYCCNCAYTGG (I) SEQ ID NO : 5

dans laquelle :

Y représente C ou T,

B représente C, G ou T,

10 N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'83a TAYBTNITYCCNCACTGG SEQ ID NO : 6

PTLVE5'83b TAYBTNITYCCNCATTGG SEQ ID NO : 7

Y, B et N étant tels que définis ci-dessus,

15 * le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche

MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (II) suivante :

AAYTTYACNCARGARGT (II) SEQ ID NO : 8

dans laquelle :

20 Y représente C ou T,

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 5' choisies parmi les suivantes :

PTLVE5'140a AAYTTYACNCAAGAAGT SEQ ID NO : 9

25 PTLVE5'140b AAYTTYACNCAGGAAGT SEQ ID NO : 10

PTLVE5'140c AAYTTYACNCAAGAGGT SEQ ID NO : 11

PTLVE5'140d AAYTTYACNCAGGAGGT SEQ ID NO : 12

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

30 - aux oligonucléotides dégénérés en orientation 3' issus du brin ADN (-) codant pour :

* le fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche

MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (III) suivante :

NACYTCYTGNNGTRAARTT (III) SEQ ID NO : 13

dans laquelle :

Y représente C ou T,

R représente A ou G,

5 N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'145a NACYTCYTGNNTAAATT SEQ ID NO : 14

PILVE3'145b NACYTCYTGNGTGAAATT SEQ ID NO : 15

PILVE3'145c NACYTCYTGNGTAAAGTT SEQ ID NO : 16

0 PILVE3'145d NACYTCYTGNGTGAAGTT SEQ ID NO : 17

Y et N étant tels que définis ci-dessus,

* le fragment polypeptidique 222-228 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (IV) suivante :

5 RMNACNATRCANSWRTARTT (IV) SEQ ID NO : 18

dans laquelle :

R représente A ou G,

M représente A ou C,

S représente C ou G,

0 W représente A ou T,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'228a RMNACNATRCANSATAATT SEQ ID NO : 19

PILVE3'228b RMNACNATRCANSAGTAATT SEQ ID NO : 20

5 PILVE3'228c RMNACNATRCANSATAAGTT SEQ ID NO : 21

PILVE3'228d RMNACNATRCANSAGTAGIT SEQ ID NO : 22

PILVE3'228e RMNACNATRCANSTATAATT SEQ ID NO : 23

PILVE3'228f RMNACNATRCANSTGTAATT SEQ ID NO : 24

PILVE3'228g RMNACNATRCANSTATAAGIT SEQ ID NO : 25

0 PILVE3'228h RMNACNATRCANSTGTAGIT SEQ ID NO : 26

R, M, S, et N étant tels que définis ci-dessus,

* le fragment polypeptidique 237-241 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, lesdits oligonucléotides étant choisis parmi ceux de formule (V) suivante :

RTANARNACRTGCCA

(V)

SEQ ID NO : 27

5 dans laquelle :

R représente A ou G,

N représente A, C, G ou T,

telles que les amores oligonucléotidiques 3' choisies parmi les suivantes :

PILVE3'241a RTANARNACATGCCA

SEQ ID NO : 28

10 PILVE3'241b RTANARNACGTGCCA

SEQ ID NO : 29

R, et N étant tels que définis ci-dessus.

14. Procédé de détection de toute souche de PTLV, à savoir de toute souche appartenant aux HTLV-1, HTLV-2, STLV-1, STLV-2, et STLV-3, ainsi que de toute souche de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, telles que définies dans la 15 revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend :

- la mise en contact d'un couple d'oligonucléotides dégénérés 5' et 3' tels que définis dans l'une des revendications 1 à 13, avec l'ADN génomique ou l'ADN complémentaire dérivé à partir d'ARN extraits du contenu d'un échantillon biologique (tels que cellules 20 sanguines, de moelle osseuse, biopsies, notamment de peau ou autres organes, ou frottis susceptible de contenir des PTLV tels que définis ci-dessus,

- l'amplification de fragments d'ADN codant pour un fragment des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV tel que défini dans la revendication 1 ou 9,

25 - la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV tels que définis ci-dessus dans ledit échantillon biologique.

15. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon la revendication 14, caractérisé en ce que l'étape d'amplification comprend la mise en œuvre de deux réactions 30 d'amplification, la deuxième réaction étant effectuée sur un échantillon de produits obtenus dans le cadre de la première réaction à l'aide des mêmes oligonucléotides 5' que dans le cas de la première réaction, et d'oligonucléotides 3' différents de ceux utilisés dans la première réaction, à savoir des amores 3' dites « nichées » hybrideant avec une région située plus en

amont de la séquence codant pour la SU que les amorce \circ s 3' utilisées dans la première réaction.

16. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon la revendication 14 ou 15,

5 caractérisé en ce qu'il comprend :

- une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis parmi les couples :

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (IV), ou

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (V), ou

10 * oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (V),

- et une deuxième étape d'amplification du nombre de copies de fragments d'ADN obtenus lors de l'étape précédente à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis respectivement parmi les couples :

* oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III), ou

15 * oligonucléotides de formule (I)/oligonucléotides de formule (III ou IV), ou

* oligonucléotides de formule (II)/oligonucléotides de formule (IV),

- la détection des fragments d'ADN amplifiés lors de l'étape précédente, cette détection pouvant être corrélée à la détection et le cas échéant à l'identification de PTLV dans l'échantillon biologique.

20

17. Procédé de détection de toute souche de PTLV selon l'une des revendications 14 à 16, caractérisé en ce qu'il comprend :

- une première réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

25 * les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,

* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (V) suivante :

PTLVE3'241b RTANARNACGTGCGA SEQ ID NO : 29

30

R, et N étant tels que définis dans la revendication 6,

- une deuxième réaction d'amplification génique effectuée à l'aide de couples d'oligonucléotides dégénérés choisis de telle manière que :

* les oligonucléotides dégénérés 5' sont ceux de formule (I) suivante :

PTLVE5'83b TAYBTNTTYCCNCATTGG SEQ ID NO : 5

Y, B et N étant tels que définis dans la revendication 5,

* les oligonucléotides dégénérés 3' sont ceux de formule (III) suivante :

PILVE3'145a NACYTCYTGNNTAAAATT SEQ ID NO : 14

5 Y et N étant tels que définis dans la revendication 6.

18. Trousse ou kit pour la mise en œuvre d'un procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17, caractérisé en ce qu'il comprend un couple d'amorces tel que défini dans l'une des revendications 1 à 13, et, le cas échéant, les réactifs nécessaires à la mise en œuvre de la réaction d'amplification par PCR et pour la détection des fragments amplifiés.

19. Application du procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17 :

- au diagnostic de pathologies liées à une infection par un PTLV, ou par un virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV, chez l'homme ou l'animal, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies inflammatoires, les maladies dégénératives,

- au criblage et à l'identification de nouveaux agents infectieux chez l'homme ou l'animal, et plus particulièrement de nouvelles souches, ou variants, de virus susceptibles d'être classés dans les PTLV, ou de virus comportant des séquences apparentées aux SU des PTLV,

- au criblage de gènes de prédisposition ou de résistance à des pathologies chez l'homme ou l'animal liées à la présence des PTLV ou de séquences apparentées, ou à une infection par un PTLV, telles que les hémopathies, les maladies auto-immunes, les maladies dégénératives,

25 - au criblage ou à la conception de nouveaux agents thérapeutiques comprenant des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés,

- au criblage ou à la conception de nouveaux vecteurs de thérapie cellulaire utilisant les propriétés de tropisme des séquences entières ou partielles des protéines d'enveloppe de nouveaux variants de PTLV ainsi détectés.

30

20. Variants de type HTLV-1 tels qu'obtenus par mise en œuvre d'un procédé de détection selon l'une des revendications 14 à 17, correspondants :

- au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 31 suivante :

5 I K K P N P N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 30 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
 15 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés.

20 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 33 suivante :

V K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

25 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

30 et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 32 suivante :

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
 ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés.

5 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 35 suivante :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	<u>L</u>	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle 15 comprend la séquence SEQ ID NO : 34 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés.

25 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 37 suivante :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	Y	L	A	S	Y	S	D
P	C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y
T	G	<u>P</u>	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V			

30 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué en gras et souligné,

et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 36 suivante :

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT

ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

5 - au variant dont la protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID NO : 39 suivante :

I	K	K	P	N	R	N	G	G	G	Y	<u>H</u>	S	A	S	Y	S	D	P
C	S	L	K	C	P	Y	L	G	C	Q	S	W	T	C	P	Y	<u>A</u>	G
A	V	S	S	P	Y	W	K	F	Q	Q	D	V	N	F	T	Q	E	V

10 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras et soulignés,

15 et dont la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 38 suivante :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

20 AAT TTT ACC CAG GAA GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

25 21. Variant de type HTLV-2 tel qu'obtenu par mise en œuvre d'un procédé de détection selon la revendication 14, caractérisé en ce que:

- sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence peptidique SEQ ID

30 NO : 41 suivante :

I	<u>R</u>	K	P	N	R	Q	G	L	G	Y	Y	S	P	S	Y	N	D
P	C	S	L	Q	C	P	Y	L	G	<u>S</u>	Q	S	W	T	C	P	Y
T	<u>A</u>	P	V	S	<u>T</u>	P	S	W	<u>N</u>	F	H	S	D	V			

35 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2

(décrise par Lee et al., 1993. Virology 196, 57-69 ; n° d'accès Genbank L20734.1), dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N)

5 indiqués en gras et soulignés,

- la séquence nucléotidique codant pour sa protéine d'enveloppe est telle qu'elle comprend la séquence SEQ ID NO : 40 suivante :

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC
CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTG GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC

10 ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en

15 position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés.

22. Polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245

20 des protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV, telles que la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43, ou de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45, ou de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47, ou de virus portant des séquences apparentées aux SU des PTLV, ou délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90, et du côté C-
25 terminal par un acide aminé situé entre les positions 135 à 150 desdites protéines d'enveloppe des différentes souches des PTLV.

23. Polypeptides selon la revendication 22, choisis parmi :

30 - le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 83 ou 89, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 139 ou 145, de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1 représentée par SEQ ID NO : 43,

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 79 ou 85, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 135 ou 141, de la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2 représentée par SEQ ID NO : 45,

- le polypeptide délimité du côté N-terminal par l'acide aminé situé à la position 82 ou 88, et du côté C-terminal par l'acide aminé situé à la position 138 ou 144, de la protéine d'enveloppe de la souche de STLV-3 représentée par SEQ ID NO : 47.

5 24. Polypeptides codés par les fragments d'ADN amplifiés dans le cadre du procédé de détection selon la revendication 14, des variants de type HTLV-1 à HTLV-2 selon l'une des revendications 17 à 21, caractérisés en ce qu'ils comprennent les séquences peptidiques suivantes :

- polypeptide 1 (SEQ ID NO : 31) :

10 I K K P N P N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu arginine (R) en position 94, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu proline (P) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

-polypeptide 2 (SEQ ID NO : 33):

20 V K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu isoleucine (I) en position 89, et le résidu sérine (S) en position 101, sont respectivement remplacés par un résidu valine (V) et un résidu leucine (L) indiqués en gras et soulignés,

- polypeptide 3 (SEQ ID NO : 35):

30 I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G A V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle le résidu sérine (S) en position 101, est remplacé par un résidu leucine (L) indiqué en gras et souligné.

35 - polypeptide 4 (SEQ ID NO : 37):

I K K P N R N G G G Y Y L A S Y S D
 P C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y
 T G P V S S P Y W K F Q Q D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés
 5 aux positions 89 à 139 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans
 laquelle le résidu alanine (A) en position 127, est remplacé par un résidu proline (P) indiqué
 en gras et souligné,

- polypeptide 5 (SEQ ID NO : 39) :

I K K P N R N G G G Y H S A S Y S D
 10 C S L K C P Y L G C Q S W T C P Y A
 A V S S P Y W K F Q Q D V N F T Q E

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés
 aux positions 89 à 145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans
 laquelle le résidu tyrosine (Y) en position 100, et le résidu thréonine (T) en position 125, sont
 15 respectivement remplacés par un résidu histidine (H) et un résidu alanine (A) indiqués en gras
 et soulignés,

- polypeptide 6 (SEQ ID NO : 41) :

I R K P N R Q G L G Y Y S P S Y N D
 P C S L Q C P Y L G S Q S W T C P Y
 20 T A P V S T P S W N F H S D V

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les acides aminés situés
 aux positions 85 à 135 de la protéine d'enveloppe de la souche prototype NRA de HTLV-2,
 dans laquelle les résidus lysine (K) en position 86, cystéine (C) en position 113, glycine (G) en
 position 122, sérine (S) en position 126, et lysine (K) en position 130, sont respectivement
 25 remplacés par les résidus arginine (R), sérine (S), alanine (A), thréonine (T), et asparagine (N)
 indiqués en gras et soulignés.

25. Acides nucléiques caractérisés en ce qu'ils codent pour un polypeptide selon l'une
 des revendications 22 à 24.

30

26. Acides nucléiques selon la revendication 25, comprenant les séquences
 nucléotidiques suivantes :

- acide nucléique 1 a (SEQ ID NO : 30):

ATT AAA AAG CCA AAC CCA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
 35 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT

ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 281, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par C, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 1 selon la revendication 24,

- acide nucléique 2 a (SEQ ID NO : 32):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
10 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle A en position 266, C en position 302, et G en position 333, sont respectivement remplacés par G, T, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 2 la revendication 24,

- acide nucléique 3 a (SEQ ID NO : 34) :

ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
20 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAA CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle C en position 302, G en position 333, et G en position 408, sont respectivement remplacés par T, A, et A indiqués en gras et soulignés,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 3 la revendication 24,

- acide nucléique 4 a (SEQ ID NO : 36):

GTT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT TAT TTA GCC TCT TAT TCA GAC
30 CCT TGT TCC TTA AAA TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC CCC TAT
ACA GGA CCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 417 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1, dans laquelle G en position 379, est remplacé par C indiqué en gras et souligné,

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 4 selon la revendication 24,

- acide nucléique 5 a (SEQ ID NO : 38) :

5 ATT AAA AAG CCA AAC CGA AAT GGC GGA GGC TAT CAT TCA GCC TCT TAT TCA
GAC CCT TGT TCC TTA AAG TGC CCA TAC CTG GGG TGC CAA TCA TGG ACC TGC
CCC TAT GCA GGA GCC GTC TCC AGC CCC TAC TGG AAG TTT CAG CAA GAT GTC
AAT TTT ACC CAG GAA GTA

à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 265 à 435 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche MT-10 2 de HTLV-1, dans laquelle T en position 298, A en position 373, T en position 426, A en position 429, et T en position 435, sont respectivement remplacés par C, G, C, G, et A indiqués en gras et soulignés.

ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 5 selon la revendication 24,

15 - acide nucléique 6 a (SEQ ID NO : 40):

ATA AGA AAG CCA AAC AGA CAG GGC CTA GGG TAC TAC TCG CCT TCC TAC AAT GAC
CCT TGC TCG CTA CAA TGC CCC TAC TTC GGC TCC CAA TCA TGG ACA TGC CCA TAC
ACG GCC CCC GTC TCC ACT CCA TCC TGG AAT TTT CAT TCA GAT GTA

20 à savoir une séquence correspondant à la séquence délimitée par les nucléotides situés aux positions 253 à 405 de la séquence codant pour la protéine d'enveloppe de la souche NRA de HTLV-2, dans laquelle A en position 257, G en position 258, T en position 267, A en position 282, C en position 294, T en position 300, A en position 333, G en position 338, G en position 365, G en position 377, G en position 390, et C en position 396, sont respectivement remplacés par G, A, C, G, T, C, G, C, C, T, et T indiqués en gras et soulignés,

25 ou toute séquence nucléotidique dérivée par dégénérescence du code génétique et codant pour le polypeptide 6 selon la revendication 24.

30 27. Anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre un variant selon la revendication 20 ou 21, ou contre un polypeptide selon l'une des revendications 22 à 24, tels qu'obtenus par immunisation d'un animal approprié avec un polypeptide susmentionné.

28. Composition pharmaceutique, notamment vaccins ou vecteurs thérapeutiques, comprenant, un polypeptide selon l'une des revendications 22 à 24, ou un acide nucléique

selon la revendication 25 ou 26, ou des anticorps selon la revendication 27, le cas échéant en association avec un véhicule pharmaceutiquement acceptable.

LISTE DE SEQUENCES

<110> CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

<120> OLIGONUCLÉOTIDES ISSUS DES SEQUENCES CODANT POUR
LA COMPOSANTE DE SURFACE DES PROTEINES D'ENVELOPPE
DES PTLV ET LEURS UTILISATIONS

<130> IFB 02 BC CNR PTLV

<140> FR 02/05001

<141> 2002-04-22

<160> 47

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 6

<212> PRT

<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> L ou V

<400> 1
Tyr Xaa Phe Pro His Trp
1 5

<210> 2

<211> 6

<212> PRT

<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Q ou R

<400> 2
Asn Phe Thr Xaa Glu Val
1 5

<210> 3

<211> 7

<212> PRT

<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> S ou T

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> I ou M

<400> 3
Asn Tyr Xaa Cys Xaa Val Cys
1 5

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 4
Trp His Val Leu Tyr
1 5

<210> 5
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant
au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> C ou T

<400> 5
tannntttnc cncatgg

<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<400> 6
tanntnttnc cncactgg 18

<210> 7
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant au fragment polypeptidique 83-88 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)

<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<400> 7
tanntnttnc ncattgg

18

<210> 8
<211> 17
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> A ou G

<400> 8
aanttnacnc angangt

17

<210> 9
<211> 17
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>

<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A, C, G ou T

<400> 9
aanttnacnc aagaagt

17

<210> 10
<211> 17
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A, C, G ou T

<400> 10
aanttnacnc aggaagt

17

<210> 11
<211> 17
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

```
<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A, C, G ou T

<400> 11
aanttnacnc aagaggt

<210> 12
<211> 17
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 5' issu du brin ADN (+) correspondant
      au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
      d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A, C, G ou T

<400> 12
aanttnacnc aggaggt

<210> 13
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
      au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
      d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
```

<222> (1)...(1)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)...(4)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)...(7)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)...(10)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)...(13)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (16)...(16)
<223> A ou G

<400> 13
nacntcnntgn gtnaantt

<210> 14
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(1)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)...(4)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)...(7)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)...(10)
<223> A, C, G ou T

<400> 14
nacntcntgn gtaaaaatt

18

<210> 15
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> A, C, G ou T

<400> 15
nacntcntgn gtgaaatt

18

<210> 16
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature

<222> (7)..(7)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> A, C, G ou T

<400> 16
nacntcntgn gtaaaagtt

18

<210> 17
<211> 18
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 140-145 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> C ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> A, C, G ou T

<400> 17
nacntcntgn gtgaagtt

18

<210> 18
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> A ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> A ou G

<400> 18
nnnnacnatnc annwntantt

<210> 19
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<221> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature

<222> (1) .. (1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2) .. (2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3) .. (3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6) .. (6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9) .. (9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12) .. (12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13) .. (13)
<223> C ou G

<400> 19
nnnacnatnc annaataatt

20

<210> 20
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1) .. (1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2) .. (2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3) .. (3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 20
nnnacnatnc annagtaatt

<210> 21
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>

<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 21
nnnacnatnc annaatagtt

<210> 22
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 22
nnnacnatnc annagtagtt

```

<210> 23
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
      au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
      d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 23
nnnacnatnccnnataatt

<210> 24
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
      au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
      d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

```

```
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 24
nnnacnatnc anntgtaatt

<210> 25
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
      au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
      d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
```

<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 25
nnnacnatnc anntatagtt

20

<210> 26
<211> 20
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 222-228 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> A ou C

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> C ou G

<400> 26
nnnacnacnac annttgatgtt

20

<210> 27
<211> 15
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> A ou G

<400> 27
ntanannacnac tgcca

15

<210> 28
<211> 15
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine

18/32
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> A, C, G ou T

<400> 28
ntanannaca tgcca

15

<210> 29
<211> 15
<212> ADN
<213> séquence artificielle

<220>
<223> oligonucléotide 3' issu du brin ADN (-) correspondant
au fragment polypeptidique 237-241 de la protéine
d'enveloppe de la souche MT-2 de HTLV-1

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> A, C, G ou T

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> A ou G

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> A, C, G ou T

<400> 29
ntanannacg tgcca

15

<210> 30

<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(153)
<223>

<400> 30
att aaa aag cca aac cca aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tot tat 48
Ile Lys Lys Pro Asn Pro Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1 5 10 15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg 96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag 144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

caa gat gtc 153
Gln Asp Val
50

<210> 31
<211> 51
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 31
Ile Lys Lys Pro Asn Pro Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr 15
1 5 10 15

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

Gln Asp Val
50

<210> 32
<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(153)
<223>

<400> 32
gtt aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat 48
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1 5 10 15

20/32

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg	96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag	144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

caa gat gtc	153
Gln Asp Val	
50	

<210> 33
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 33	
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr	
1 5 10 15	

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

Gln Asp Val	
50	

<210> 34
 <211> 153
 <212> ADN
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(153)
 <223>

<400> 34	
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat	48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr	
1 5 10 15	

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg	96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp	
20 25 30	

acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt caa	144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln	
35 40 45	

caa gat gtc	153
Gln Asp Val	
50	

<210> 35

21/32

<211> 51
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 35
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1 5 10 15

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

Gln Asp Val
50

<210> 36
<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(153)
<223>

<400> 36
gtt aac aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat tat tta gcc tct tat 48
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1 5 10 15

tca gac cct tgt tcc tta aaa tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg 96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

acc tgc ccc tat aca gga ccc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag 144
Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

caa gat gtc 153
Gln Asp Val
50

<210> 37
<211> 51
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 37
Val Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Gly Tyr Tyr Leu Ala Ser Tyr
1 5 10 15

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

Gln Asp Val
50

<210> 38
<211> 171
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(171)
<223>

<400> 38
att aaa aag cca aac cga aat ggc gga ggc tat cat tca gcc tct tat 48
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr His Ser Ala Ser Tyr
1 5 10 15

tca gac cct tgt tcc tta aag tgc cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg 96
Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

acc tgc ccc tat gca gga gcc gtc tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag 144
Thr Cys Pro Tyr Ala Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

caa gat gtc aat ttt acc cag gaa gta 171
Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val
50 55

<210> 39
<211> 57
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

<400> 39
Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly Gly Tyr His Ser Ala Ser Tyr
1 5 10 15

Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp
20 25 30

Thr Cys Pro Tyr Ala Gly Ala Val Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln
35 40 45

Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val
50 55

<210> 40
<211> 153
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(153)
 <223>

 <400> 40
 ata aga aag cca aac aqa cag ggc cta qgg tac tac teg cct tcc tac 48
 Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr
 1 5 10 15

 aat gac cct tgc tgc cta caa tgc ccc tac ttg ggc tcc caa tca tgg 96
 Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp
 20 25 30

 aca tgc cca tac acg gcc ccc gtc tcc act cca tcc tgg aat ttt cat 144
 Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His
 35 40 45

 tca gat gta 153
 Ser Asp Val
 50

 <210> 41
 <211> 51
 <212> PRT
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

 <400> 41
 Ile Arg Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr Ser Pro Ser Tyr 48
 1 5 10 15

 Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly Ser Gln Ser Trp
 20 25 30

 Thr Cys Pro Tyr Thr Ala Pro Val Ser Thr Pro Ser Trp Asn Phe His
 35 40 45

 Ser Asp Val
 50

 <210> 42
 <211> 924
 <212> ADN
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1

 <220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(924)
 <223>

 <400> 42
 atg ggt aag ttt ctc gcc act ttg att tta ttc ttc cag ttc tgc ccc 48
 Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro
 1 5 10 15

 ctc atc ctc ggt gat tac agc ccc agc tgc tgt act ctc aca att gga 96
 Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly
 20 25 30

gtc tcc tca tac cac tot aaa ccc tgc aat cct gco cag cca gtt tgt	24/32	144
Val Ser Ser Tyr His Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys		
35 40 45		
tcg tgg acc ctc gac ctg ctg gcc ctt tca gcg gat cag gag cca cta cag		192
Ser Trp Thr Leu Asp Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln		
50 55 60		
ccc ccc tgc cct aat cta gta agt tac tcc agc tac cat gcc acc tat		240
Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Tyr His Ala Thr Tyr		
65 70 75 80		
tcc cta tat cta ttc cct cat tgg att aaa aag cca aac cga aat ggc		288
Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly		
85 90 95		
gga ggc tat tat tca gcc tct tat tca gac cct tgt tcc tta aag tgc		336
Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys		
100 105 110		
cca tac ctg ggg tgc caa tca tgg acc tgc ccc tat aca gga gcc gtc		384
Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val		
115 120 125		
tcc agc ccc tac tgg aag ttt cag caa gat gtc aat ttt act caa gaa		432
Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu		
130 135 140		
gtt tca cgc ctc aat att aat ctc cat ttt tca aaa tgc ggt ttt ccc		480
Val Ser Arg Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro		
145 150 155 160		
ttc tcc ctt cta gtc gag gct cca gga tat gag ccc atc tgg ttc ctt		528
Phe Ser Leu Leu Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu		
165 170 175		
aat acc gaa ccc agc caa ctg cct ccc acc gcc cct cct cta ctc ccc		576
Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro		
180 185 190		
cac tct aac cta gac cac atc ctc gag ccc tct ata cca tgg aaa tca		624
His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser		
195 200 205		
aaa ctc ctg acc ctt gtc gag tta acc cta caa agc act aat tat act		672
Lys Leu Leu Thr Leu Val Gin Leu Thr Ieu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr		
210 215 220		
tgc att gtc tgt atc gat cgt gcc agc cta tcc act tgg cac gtc cta		720
Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Ieu Ser Thr Trp His Val Leu		
225 230 235 240		
tac tct ccc aac gtc tot gtt cca tcc tot tct tot acc ccc ctc ctt		768
Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu		
245 250 255		
tac cca tcg tta gcg ctt cca gcc ccc cac ctg acg tta cca ttt aac		816
Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn		
260 265 270		
tgg acc cac tgc ttt gac ccc cag att caa gct ata gtc tcc tcc ccc		864

Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
 25/32
 275 280 285

tgt cat aac tcc ctc atc ctg ccc ccc ttt tcc ttg tca cct gtt ccc
 Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
 290 295 300

912

acc cta gga tcc
 Thr Leu Gly Ser
 305

924

<210> 43
 <211> 308
 <212> PRT
 <213> Human T-cell lymphotropic virus type 1
 <400> 43

Met Gly Lys Phe Leu Ala Thr Leu Ile Leu Phe Phe Gln Phe Cys Pro
 1 5 10 15

Leu Ile Leu Gly Asp Tyr Ser Pro Ser Cys Cys Thr Leu Thr Ile Gly
 20 25 30

Val Ser Ser Tyr His Ser Lys Pro Cys Asn Pro Ala Gln Pro Val Cys
 35 40 45

Ser Trp Thr Leu Asp Leu Leu Ala Leu Ser Ala Asp Gln Ala Leu Gln
 50 55 60

Pro Pro Cys Pro Asn Leu Val Ser Tyr Ser Ser Tyr His Ala Thr Tyr
 65 70 75 80

Ser Leu Tyr Leu Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Asn Gly
 85 90 95

Gly Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ser Leu Lys Cys
 100 105 110

Pro Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Ala Val
 115 120 125

Ser Ser Pro Tyr Trp Lys Phe Gln Gln Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu
 130 135 140

Val Ser Arg Leu Asn Ile Asn Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Phe Pro
 145 150 155 160

Phe Ser Leu Leu Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Ile Trp Phe Leu
 165 170 175

Asn Thr Glu Pro Ser Gln Leu Pro Pro Thr Ala Pro Pro Leu Leu Pro
180 185 190

His Ser Asn Leu Asp His Ile Leu Glu Pro Ser Ile Pro Trp Lys Ser
195 200 205

Lys Leu Leu Thr Leu Val Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Thr
210 215 220

Cys Ile Val Cys Ile Asp Arg Ala Ser Leu Ser Thr Trp His Val Leu
225 230 235 240

Tyr Ser Pro Asn Val Ser Val Pro Ser Ser Ser Thr Pro Leu Leu
245 250 255

Tyr Pro Ser Leu Ala Leu Pro Ala Pro His Leu Thr Leu Pro Phe Asn
260 265 270

Trp Thr His Cys Phe Asp Pro Gln Ile Gln Ala Ile Val Ser Ser Pro
275 280 285

Cys His Asn Ser Leu Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Val Pro
290 295 300

Thr Leu Gly Ser
305

<210> 44
<211> 912
<212> ADN
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

<220>
<221> CDS
<222> (1)...(912)
<223>

<400> 44
atg ggt aac gtt ttc ttc cta ctt tta ttc agt ctc aca cac ttc cca 48
Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro
1 5 10 15

cca gtc cag cag agc cga tgc aca ctc acg ggt att tcc tcc tac 96
Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

cac tcc agc ccc tgt agc cca acc caa ccc gtc tgc acg tgg aac ctc 144
His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu
35 40 45

gac ctt aat tcc cta acg acg gac cag cga cta cat ccc ccc tgc ctc	27/32	192
Asp Leu Asn Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu His Pro Pro Cys Pro		
50 55 60		
aac cta att act tac tct ggc ttc cac aaa act tat tcc tta tac tta		240
Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu		
65 70 75 80		
ttc cca cat tgg ata aag aag cca aat aga cag ggc cta gga tac tac		288
Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr		
85 90 95		
tcg ccc tcc tat aat gac cct tgc tgc cta caa tgc ccc tac tta ggc		336
Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly		
100 105 110		
tgc caa tca tgg aca tgc cca tac acg ggc ccc gtc tcc agt cca tcc		384
Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser		
115 120 125		
tgg aag ttt cac tca gat gta aat ttc acc caa gaa gtc agc caa gtg		432
Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val		
130 135 140		
tcc ctt cga cta cad ttc tot aag tgc ggc tcc tcc atg acc ctt cta		480
Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu		
145 150 155 160		
gta gat gcc cct gga tat gat cct tta tgg ttc atc acc tca gaa ccc		528
Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro		
165 170 175		
act cag cct ccc cca act cct ccc cca ctg gtc cat gac tcc gac ctt		576
Thr Gln Pro Pro Thr Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu		
180 185 190		
gaa cac gtc cta acc ccc tcc acg tct tgg aca acc aaa atg ctc aag		624
Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys		
195 200 205		
ttt atc cag ctg acc ttg cag agc acc aat tac tcc tgc atg gtt tgc		672
Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys		
210 215 220		
gtg gat aga tcc acg ctc tca tcc tgg cat gtg ctc tac acc ccc aac		720
Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn		
225 230 235 240		
atc tcc att ccc caa caa acc tcc tcc cga acc atc ctc ttt cct tct		768
Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser		
245 250 255		
ctt gcc ctg ccc gct cct cca ttc caa ccc ttc ctc tgg acc cat tgc		816
Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys		
260 265 270		
tac caa cct cgc cta cag gca ata acg aca gat gac tgc aac aac tcc		864
Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser		
275 280 285		
att atc ctc ccc cct ttt tcc ctc gcc ccc gta cct ctc ccc cgg cgc aca		912

Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr
290 295 300

28/32

<210> 45
<211> 304
<212> PRT
<213> Human T-cell lymphotropic virus type 2

<400> 45

Met Gly Asn Val Phe Phe Leu Leu Leu Phe Ser Leu Thr His Phe Pro
1 5 10 15

Pro Val Gln Gln Ser Arg Cys Thr Leu Thr Val Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

His Ser Ser Pro Cys Ser Pro Thr Gln Pro Val Cys Thr Trp Asn Leu
35 40 45

Asp Leu Asn Ser Leu Thr Thr Asp Gln Arg Leu His Pro Pro Cys Pro
50 55 60

Asn Leu Ile Thr Tyr Ser Gly Phe His Lys Thr Tyr Ser Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Phe Pro His Trp Ile Lys Lys Pro Asn Arg Gln Gly Leu Gly Tyr Tyr
85 90 95

Ser Pro Ser Tyr Asn Asp Pro Cys Ser Leu Gln Cys Pro Tyr Leu Gly
100 105 110

Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser Ser Pro Ser
115 120 125

Trp Lys Phe His Ser Asp Val Asn Phe Thr Gln Glu Val Ser Gln Val
130 135 140

Ser Leu Arg Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Met Thr Leu Leu
145 150 155 160

Val Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Leu Trp Phe Ile Thr Ser Glu Pro
165 170 175

Thr Gln Pro Pro Pro Thr Pro Pro Leu Val His Asp Ser Asp Leu
180 185 190

Glu His Val Leu Thr Pro Ser Thr Ser Trp Thr Thr Lys Met Leu Lys
195 200 205

Phe Ile Gln Leu Thr Leu Gln Ser Thr Asn Tyr Ser Cys Met Val Cys
 210 215 220

Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr Thr Pro Asn
 225 230 235 240

Ile Ser Ile Pro Gln Gln Thr Ser Ser Arg Thr Ile Leu Phe Pro Ser
 245 250 255

Leu Ala Leu Pro Ala Pro Pro Phe Gln Pro Phe Pro Trp Thr His Cys
 260 265 270

Tyr Gln Pro Arg Leu Gln Ala Ile Thr Thr Asp Asp Cys Asn Asn Ser
 275 280 285

Ile Ile Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ala Pro Val Pro Pro Pro Ala Thr
 290 295 300

<210> 46
 <211> 930
 <212> ADN
 <213> Simian T-cell lymphotropic virus type 3

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(930)
 <223>

<400> 46
 atg ggt aag ttt ggc ctt tat tgt ctt gtt cac ctt tac ata ctt ctc 48
 Met Gly Lys Phe Gly Leu Tyr Cys Leu Val His Leu Tyr Ile Leu Leu
 1 5 10 15

cct gcc tcc tct ggc aat ccc agt cgg tgc acc ctg ttc ata ggg gcc 96
 Pro Ala Ser Ser Gly Asn Pro Ser Arg Cys Thr Leu Phe Ile Gly Ala
 20 25 30 }

tct tcc tac cac tcc agc cct tgc ggg tcc agc ctc cca cgg tgt acc 144
 Ser Ser Tyr His Ser Ser Pro Cys Gly Ser Ser Leu Pro Arg Cys Thr
 35 40 45

tgg aat ctt gac cta ttc tcc ctc acg aaa gat caa agc cta agc ccc 192
 Trp Asn Leu Asp Leu Phe Ser Leu Thr Lys Asp Gln Ser Leu Ser Pro
 50 55 60

cca tgt cca gac tta att act tac tca caa tac cac aag ccc tac tcc 240
 Pro Cys Pro Asp Leu Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr His Lys Pro Tyr Ser
 65 70 75 80

ctg tat gta ttc cct cat tgg ata act aaa cct aac cgc cgg ggc tta 288
 Leu Tyr Val Phe Pro His Trp Ile Thr Lys Pro Asn Arg Arg Gly Leu
 85 90 95

ggt tac tat tcc gct tcc tac tca gac ccc 30/32	tgt gcc ata cag tgc cct	336	
Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ala Ile Gln Cys Pro			
100	105	110	
tac ctg gga tgc cag tgc tgg aca tgc ccc 384	tat acg ggc ccg gtg tcc		
Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser			
115	120	125	
agt ccg cat tgg aga tac acc tat gat ott aac 432	ttt acc cag gag gta		
Ser Pro His Trp Arg Tyr Thr Tyr Asp Leu Asn Phe Thr Gln Glu Val			
130	135	140	
tca tcc gtc tcc tta cac ttg cat ttc tcc 480	aaa tgc gga tcc tcc tgc ttc		
Ser Ser Val Ser Leu His Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Phe			
145	150	155	160
tcc ttt cta cta gac gca cca gga tat gac 528	cca gtg tgg ttc ctc tcc		
Ser Phe Leu Leu Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Val Trp Phe Leu Ser			
165	170	175	
tcc cag gcc aca cag gct cca ccc aca cct 576	gcc cct ctc ata cgg gac		
Ser Gln Ala Thr Gln Ala Pro Pro Thr Pro Ala Pro Leu Ile Arg Asp			
180	185	190	
tca gat ctc cag tac att cta gaa cgg ccc 624	att ccc tgg agc tct aag		
Ser Asp Leu Gln Tyr Ile Leu Glu Pro Pro Ile Pro Trp Ser Ser Lys			
195	200	205	
att ctt aac ctt atc ctc acc cta aaa 672	agc act aac tat tat tct tgc		
Ile Ieu Asn Leu Ile Ieu Leu Thr Leu Lys Ser Thr Asn Tyr Ser Cys			
210	215	220	
atg gtc tgt gtt gac cgc tcc agc cta 720	tcc tca tgg cat gtc ctg tat		
Met Val Cys Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr			
225	230	235	240
gga ccc act caa gtc ccc agt cca ccc gac 768	ccc caa gcc cgg tct atc		
Gly Pro Thr Gln Val Pro Ser Pro Asp Pro Gln Ala Arg Ser Ile			
245	250	255	
ctg cga cct gcc tta gct att ccc gcc agt 816	aat atc acc ccc ccc ttt		
Leu Arg Pro Ala Leu Ala Ile Pro Ala Ser Asn Ile Thr Pro Pro Phe			
260	265	270	
cct tgg acc cat tgc tat cgc cct cct 864	ccg caa gcc atc tcc tcc gag		
Pro Trp Thr His Cys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Ala Ile Ser Ser Glu			
275	280	285	
aat tgt aac aac tct gta gtg ctg ccc 912	ttt tct ctg tct cca att		
Asn Cys Asn Asn Ser Val Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Ile			
290	295	300	
cct aac gtc tcc aga ccc 930			
Pro Asn Val Ser Arg Pro			
305	310		

<210> 47
<211> 310
<212> PRT
<213> Simian T-cell lymphotropic virus type 3

<400> 47

Met Gly Lys Phe Gly Leu Tyr Cys Leu Val His Leu Tyr Ile Leu Leu
1 5 10 15

Pro Ala Ser Ser Gly Asn Pro Ser Arg Cys Thr Leu Phe Ile Gly Ala
20 25 30

Ser Ser Tyr His Ser Ser Pro Cys Gly Ser Ser Leu Pro Arg Cys Thr
35 40 45

Trp Asn Leu Asp Leu Phe Ser Leu Thr Lys Asp Gln Ser Leu Ser Pro
50 55 60

Pro Cys Pro Asp Leu Ile Thr Tyr Ser Gln Tyr His Lys Pro Tyr Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Val Phe Pro His Trp Ile Thr Lys Pro Asn Arg Arg Gly Leu
85 90 95

Gly Tyr Tyr Ser Ala Ser Tyr Ser Asp Pro Cys Ala Ile Gln Cys Pro
100 105 110

Tyr Leu Gly Cys Gln Ser Trp Thr Cys Pro Tyr Thr Gly Pro Val Ser
115 120 125

Ser Pro His Trp Arg Tyr Thr Tyr Asp Leu Asn Phe Thr Gln Glu Val
130 135 140

Ser Ser Val Ser Leu His Leu His Phe Ser Lys Cys Gly Ser Ser Phe
145 150 155 160

Ser Phe Leu Leu Asp Ala Pro Gly Tyr Asp Pro Val Trp Phe Leu Ser
165 170 175

Ser Gln Ala Thr Gln Ala Pro Pro Thr Pro Ala Pro Leu Ile Arg Asp
180 185 190

Ser Asp Leu Gln Tyr Ile Leu Glu Pro Pro Ile Pro Trp Ser Ser Lys
195 200 205

Ile Leu Asn Leu Ile Leu Leu Thr Leu Lys Ser Thr Asn Tyr Ser Cys
210 215 220

Met Val Cys Val Asp Arg Ser Ser Leu Ser Ser Trp His Val Leu Tyr
225 230 235 240

Gly Pro Thr Gln Val Pro Ser Pro Pro Asp Pro Gln Ala Arg Ser Ile
245 250 255

Leu Arg Pro Ala Leu Ala Ile Pro Ala Ser Asn Ile Thr Pro Pro Phe
260 265 270

Pro Trp Thr His Cys Tyr Arg Pro Pro Pro Gln Ala Ile Ser Ser Glu
275 280 285

Asn Cys Asn Asn Ser Val Val Leu Pro Pro Phe Ser Leu Ser Pro Ile
290 295 300

Pro Asn Val Ser Arg Pro
305 310

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 03/01274

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 C12Q/68 - C12Q1/70 - A61K31/7088 A61K38/02 A61K39/21
 - C07K14/15 - C07K16/10 - C12N15/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12Q A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 384 566 A (WISTAR INST) 29 August 1990 (1990-08-29) * voir les oligonucléotides p. 7, 1. 24 et p. 7, 1. 50 *	12
X	WO 00 46403 A (US HEALTH ; YANG CHUNFU (US); LAL RENU B (US); PIENIAZEK DANUTA (US) 10 August 2000 (2000-08-10) * voir en particulier p. 10, 1. 30-34 et Exemple 1 *	12

 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the International filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

9 September 2003

18.12.2003

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Pinta, V.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 03/01274

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>SUAREZ DAVID L ET AL: "Identification of hypervariable and conserved regions in the surface envelope gene in the bovine lentivirus." <i>VIROLOGY</i>, vol. 212, no. 2, 1995, pages 728-733, XP002253831 ISSN: 0042-6822 * voir en particulier la Table 2 *</p> <p>-----</p>	12
X	<p>RAMIREZ E. ET AL.: "Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile." <i>VIRUS RESEARCH</i>, vol. 84, 20 March 2002 (2002-03-20), XP001148390 * voir en particulier p. 137, col. 1, l. 35, oligonucléotide SG294 *</p> <p>-----</p>	12
A	<p>DUBE S. ET AL.: "Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world." <i>JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY</i>, vol. 78, 1997, pages 1389-1398, XP002233752 abstract</p> <p>-----</p>	
A	<p>GRAY G. S. ET AL.: "Envelope gene sequence of HTLV-1 isolate MT-2 and its comparison with other HTLV-1 isolates." <i>VIROLOGY</i>, vol. 177, 1990, pages 391-395, XP008014557 * voir la Figure 1 *</p> <p>-----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 03/01274

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see supplementary sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-19 (in full)

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority has determined that this international application contains more than one invention or group of inventions, namely

Invention 1: Claims 1-19 (in full)

Degenerate oligonucleotides from a nucleotide sequence coding for polypeptide fragments of 5-10 amino acids from fragments in positions 75 to 90 and 230 to 245 of primate T cell leukaemia/lymphoma virus envelope proteins, uses of oligonucleotide pairs consisting of said degenerate oligonucleotides for detecting PTLV, methods for detecting PTLV using oligonucleotide pairs consisting of said degenerate oligonucleotides, and the use of said methods, and a kit comprising said degenerate oligonucleotides.

Inventions 2-6: 20, 22 and 24-28 (all in part)

HTLV-1 variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein:

- for invention 2: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 31, said polypeptide consists of SEQ ID NO 31, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 30;
- for invention 3: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 33, said polypeptide consists of SEQ ID NO 33, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 32;
- for invention 4: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 35, said polypeptide consists of SEQ ID NO 35, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 34;

- for invention 5: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 37, said polypeptide consists of SEQ ID NO 37, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 36;
- for invention 6: the envelope protein of said HTLV-1 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 39, said polypeptide consists of SEQ ID NO 39, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 38.

Invention 7: 21 (in full), 22 and 24-28 (in part)

HTLV-2 variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein the envelope protein of said HTLV-2 variant includes peptide sequence SEQ ID NO 41, said polypeptide consists of SEQ ID NO 41, and said nucleic acid can include SEQ ID NO 40.

Inventions 8-10: 22, 23 and 25-28 (all in part)

PTLV variants, polypeptides delimited on the N-terminal side by an amino acid located between positions 75 and 90 and on the C-terminal side by an amino acid located between positions 230 and 245 of PTLV envelope proteins, nucleic acids coding for said polypeptides, antibodies to said polypeptides or said variant, and a pharmaceutical composition including one of said polypeptides or one of said nucleic acids or one of said antibodies,

wherein:

- for invention 8: said PTLV variant corresponds to HTLV-1 strain MT-2, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 43, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 83 or 89 and on the C-terminal side by an amino acid in position 139 or 145 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 42;

- for invention 9: said PTLV variant corresponds to HTLV-2 strain NRA, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 45, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 79 or 85 and on the C-terminal side by an amino acid in position 135 or 141 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 44; and

- for invention 10: said PTLV variant corresponds to strain STLV-3, said envelope protein is represented by peptide sequence SEQ ID NO 47, said polypeptide is delimited on the N-terminal side by an amino acid in position 82 or 88 and on the C-terminal side by an amino acid in position 138 or 144 of said envelope protein, and said amino acid can include SEQ ID NO 46.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/01274

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0384566	A 29-08-1990	AU	4878890 A	02-08-1990
		CA	2008731 A1	27-07-1990
		EP	0384566 A2	29-08-1990
		JP	3139299 A	13-06-1991
WO 0046403	A 10-08-2000	AU	3219400 A	25-08-2000
		WO	0046403 A2	10-08-2000

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No
PCT/FR 03/01274

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

C1B 7 C12Q1/68 C12Q1/70 A61K31/7088 A61K38/02 A61K39/21
C07K14/15 C07K16/10 C12N15/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C12Q A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	EP 0 384 566 A (WISTAR INST) 29 août 1990 (1990-08-29) * voir les oligonucléotides p. 7, 1. 24 et p. 7, 1. 50 *	12
X	WO 00 46403 A (US HEALTH ; YANG CHUNFU (US); LAL RENU B (US); PIENIAZEK DANUTA (US) 10 août 2000 (2000-08-10) * voir en particulier p. 10, 1. 30-34 et Exemple 1 *	12

 Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant porter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une autre spécificité (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'apportant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

9 septembre 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

18.12.2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Pinta, V.

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>SUAREZ DAVID L ET AL: "Identification of hypervariable and conserved regions in the surface envelope gene in the bovine lentivirus." VIROLOGY, vol. 212, no. 2, 1995, pages 728-733, XP002253831 ISSN: 0042-6822 * voir en particulier la Table 2 *</p> <p>-----</p>	12
X	<p>RAMIREZ E. ET AL.: "Genetic characterization and phylogeny of human T-cell lymphotropic virus type I from Chile." VIRUS RESEARCH, vol. 84, 20 mars 2002 (2002-03-20), XP001148390 * voir en particulier p. 137, col. 1, l. 35, oligonucléotide SG294 *</p> <p>-----</p>	12
A	<p>DUBE S. ET AL.: "Degenerate and specific PCR assays for the detection of bovine leukaemia virus and primate T cell leukaemia/lymphoma virus pol DNA and RNA: phylogenetic comparisons of amplified sequences from cattle and primates from around the world." JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 78, 1997, pages 1389-1398, XP002233752 abrégé</p> <p>-----</p>	
A	<p>GRAY G. S. ET AL.: "Envelope gene sequence of HTLV-1 isolate MT-2 and its comparison with other HTLV-1 isolates." VIROLOGY, vol. 177, 1990, pages 391-395, XP008014557 * voir la Figure 1 *</p> <p>-----</p>	

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2(a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

- Les revendications n°^{os} se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
- Les revendications n°^{os} se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
- Les revendications n°^{os} sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

- Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
- Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prétendent ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
- Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°^{os}
- Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°^{os} 1-19 (complètement)

Remarque quant à la réserve

Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.

Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

Invention 1: 1-19 (complètement)

oligonucléotides dégénérés issus d'une séquence nucléotidique codant pour des fragments polypeptidiques de 5-10 acides aminés issus de fragments compris entre les positions 75-90 et 230-245 des protéines d'enveloppe des virus de lymphomes/leucémies T chez les primates, utilisations de couples d'oligonucléotides constitués desdits oligonucléotides dégénérés pour la détection de PTLV, procédés de détection de PTLV utilisant des couples d'oligonucléotides constitués desdits oligonucléotides dégénérés et application desdits procédés, et trousses comportant lesdits oligonucléotides dégénérés.

Inventions 2-6: 20, 22 et 24-28 (toutes partiellement)

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUFS SUR PCT/ISA/ 210

variants de HTLV-1, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où:

- pour l'invention 2: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 31, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 31, et où ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 30;
- pour l'invention 3: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 33, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 33, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 32;
- pour l'invention 4: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 35, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 35, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 34;
- pour l'invention 5: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 37, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 37, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 36;
- pour l'invention 6: la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-1 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 39, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 39, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 38.

Invention 7: 21 (complètement), 22 et 24-28 (partiellement)

variant de HTLV-2, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où la protéine d'enveloppe dudit variant de HTLV-2 comprend la séquence peptidique SEQ ID NO: 41, ledit polypeptide est constitué de la SEQ ID NO: 41, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 40.

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Inventions 8-10: 22, 23 et 25-28 (toutes partiellement)

variants de PTLV, polypeptides délimités du côté N-terminal par un acide aminé situé entre les positions 75 à 90 et du côté C-terminal par un acide aminé situé entre les positions 230 à 245 des protéines d'enveloppe de PTLV, acides nucléiques codant pour lesdits polypeptides, anticorps dirigés contre lesdits polypeptides ou ledit variant, et composition pharmaceutique comprenant un desdits polypeptides ou un desdits acides nucléiques ou un desdits anticorps,

où:

- pour l'invention 8, ledit variant de PTLV correspond à la souche MT-2 de HTLV-1, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 43, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 83 ou 89 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 139 ou 145 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 42.

- pour l'invention 9, ledit variant de PTLV correspond à la souche NRA de HTLV-2, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 45, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 79 ou 85 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 135 ou 141 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 44.

- pour l'invention 10, ledit variant de PTLV correspond à la souche STLV-3, ladite protéine d'enveloppe est représentée par la séquence peptidique SEQ ID NO: 47, ledit polypeptide est délimité du côté N-terminal par un acide aminé situé à la position 82 ou 88 et du côté C-terminal par un acide aminé situé à la position 138 ou 144 de ladite protéine d'enveloppe, et ledit acide nucléique peut comprendre la SEQ ID NO: 46.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/FR 03/01274

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0384566	A	29-08-1990	AU 4878890 A CA 2008731 A1 EP 0384566 A2 JP 3139299 A	02-08-1990 27-07-1990 29-08-1990 13-06-1991
WO 0046403	A	10-08-2000	AU 3219400 A WO 0046403 A2	25-08-2000 10-08-2000